

## 講演抄録

特別講演Ⅰ	2
特別講演Ⅱ	3
日韓共催招待講演	4
シンポジウムⅠ	5
シンポジウムⅡ	10
日韓共催シンポジウム	16
日本学術会議・日本歯科保存学会 共催シンポジウム	21
認定研修会	25
外国招聘者を囲むセミナー	26

### 一般研究発表

#### 口演発表

第1日目A会場：A 1～11	27～37
第1日目B会場：B 1～13	38～50
第2日目A会場：A 12～24	51～63
第2日目B会場：B 14～25	64～75
臨床セッション：S1, 2	76, 77
韓国ポスター発表：EP1～15	78～92
ポスター発表：P1～117	93～208

## Direct Pulp Capping : ~Past, Present, and Future~

Department of Endodontics, Texas A & M Health Science Center, Baylor College of Dentistry

Takashi KOMABAYASHI

### Abstract :

Direct pulp capping is a treatment for exposed vital pulp using a dental material such as calcium hydroxide, mineral trioxide aggregates, and bonded composite resins ; These materials are used to facilitate both the formation of reparative dentin from odontoblasts and the maintenance of vital pulp. Stanley (1998) and Bender (2000) pointed out that many extirpated pulps could have been saved through the conservative approach of direct pulp capping. However, the clinical outcomes of conventional direct pulp capping involve a great deal of uncertainty regarding the survival potential of the vital pulp (Bergenholtz, 2005). The success rate following direct pulp capping for caries-exposed permanent teeth with a closed apex was 33% after 3 years (Al-Hiyasat, 2006), and was 37% after 5 years and 13% after 10 years (Barthel, 2000) ; while the success rate of pulp extirpation ranged between 90% and 95%. Therefore, direct pulp capping is currently considered controversial by many clinicians, and pulp extirpation is still the standard procedure for caries-exposed inflamed vital pulp with a closed apex. To better serve our patients in the future, the development of a novel anti-inflammatory direct pulp capping material for caries exposed pulp would be of great interest. A new dentin-pulp complex could be regenerated through the use of such a material to increase the success rate of pulp capping and stimulate pulp regeneration at the capping site. This session will help fill in some of the gaps in the knowledge in this important area.

### The aim of this session :

To understand the “Direct Pulp Capping” treatment with respect to clinical outcomes and science using evidence-based literature analysis

### Outline of this session :

This 60-minute session will cover the following topics, with 5 minutes for questions and answers.

1. Definitions of terminology [American Association of Endodontists (AAE) glossary]
2. [Past] Outcome of direct pulp capping for caries-exposed vital pulp (Literature review)
3. [Present] Dental materials for direct pulp capping
4. [Future] What is needed for developing a new direct pulp capping material with better clinical outcomes?

### At the conclusion of the session, the participants should be able to answer following questions :

- Why is direct pulp capping considered controversial by many clinicians?
- Why is the success rate of pulp capping much lower than that of vital pulp extirpation?
- How can this treatment option help your patients in clinic?
- What is the future direction for clinical and research activity in this area?

### Proprietary, financial and/or personal interests to disclose :

NIH KL2 RR024983 (TK) and UL1 RR024982 (other NIH grants under review), U. S. patent pending

### Reference :

Komabayashi T, Zhu Q : Innovative endodontic therapy for anti-inflammatory direct pulp capping of permanent teeth ; Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 109 (5), e75—e81, 2010.

特別講演 I では、英語のスライドを用いて日本語で講演します。

## 生命を探る新たな視点：バイオメカニクス

名古屋工業大学大学院工学研究科 機能工学専攻 バイオメカニクス研究室

松本健郎

バイオメカニクスとは、種々の生命現象を力学を用いて解析し、力の側面から生命の仕組みを明らかにするとともに、得られた成果を医学・生物学や工学に応用することを目指した学問・研究領域です。バイオメカニクスは大きく分けて、歩行や飛行、遊泳など生物の運動を対象とするものと、組織・器官内に力がどう作用し、それが生命活動にどのような影響を与えているのか明らかにしようとするものがありますが、ここでは、後者について紹介します。

ヒトゲノムプロジェクトの結果、ヒトの遺伝子はわずか22,000程度であることが判明しました。これはハエの2倍でマウスと同程度であり、この少ない遺伝子でどうしてヒトの高度な生命活動が維持できるのか、それは大きなナゾであるとともに、遺伝子以外の因子の重要性が認識され始めています。たとえば、ヒトDNAの情報量は百科事典1,000冊分程度であるのに対し、成体の情報量は大図書館の蔵書全体に匹敵するともいわれています。すなわち、遺伝情報だけで生命を形作るのは困難であり、タンパクの物理化学的性質や細胞や細胞小器官の位置関係、そして力が大きな役割を果たしていることが示唆されています。このため、力と生物の形作りの関係に興味が集まり、興味ある現象が次々と見つかってきています。たとえば、1) 鶏卵の発生には重力が必要：卵黄は卵白に比べ軽いので地球上では殻の内面に接しています。このことが漿尿膜の形成に必須で、無重力状態の鶏卵は発生しないことがわかっています。2) 異常な力の作用で奇形発生：受精直後のカエル卵を90°傾け20分放置すると背腹軸が逆転し、さらに30gの遠心力を4分間加えると双頭のオタマジャクシが生まれるそうです。また、巻き貝を幼生の段階で逆方向に振ると貝殻の巻き方が逆になることも報告されています。

力が生命現象に関与するのは発生段階にとどまりません。運動で筋肉や骨が太く遅くなり、寝たきりで痩せ衰えることは日常よく経験するところです。このような現象はほかの組織でも観察され、定量的なデータも蓄積されています。たとえば動脈や左心室は高血圧に曝されると壁が厚くなりますが、これは円周方向応力を一定に保つよう生じるといわれています。また、血流が増加すると血管径が拡大しますが、この場合、血液から壁面に加わる剪断応力が一定に保たれています。一方、膝蓋腱に全く力がかからない状態を人工的に作り出すと、引張強さが1週間で1/2、3週間で1/10まで低下すると報告されています。

さて、このような変化は、組織内の細胞がみずからに作用する力を感じ能動的に応答することで生じるといえます。では細胞はどのようにして力を感じているのでしょうか？この点については、まだほとんど明らかとなっていないかもしれませんが、たとえば、力が作用するとタンパクの三次元構造が変化し別のタンパクとの結合領域が露出/遮蔽されることで、そのタンパクとの反応が進行/停止する、あるいは、細胞膜の変形が細胞骨格を介して核膜を変形させ、これが核膜に付着しているDNAを変形させ、遺伝子の発現に影響する、などのメカニズムが考えられています。

このようなメカニズムを定量的に検証するには、生体組織に加わる力の分布を細胞・分子レベルで明らかにする必要があります。しかし、それは現状では困難です。なぜなら、生体組織は力学特性が大きく異なる物質が複雑に絡み合っていており、直接計測が可能な、組織に加わるマクロな力が、細胞やタンパクに加わるミクロな力と等しくないからです。すなわち、タンパクの分布がサブミクロンレベルで明らかにできるのに対し、力の分布は細胞レベルですらまだ明らかになっていないのが現状です。そこでわれわれは生体組織内部の力の分布を細胞・分子レベルで明らかにすることを目指した研究を進めています。

本講演では、このような内容をなるべく式を使わずに説明します。

## Ultrasonic tips in micro-endodontics

Department of Conservative Dentistry, Seoul National University

Seung-Ho Baek

The concept of using ultrasonic instrumentation in endodontics was first introduced in 1957 by Richman, Martin et al. reported the ability of ultrasonically activated K-type files to disinfect and cut dentin during root canal preparation in 1976. After Carr first introduced the ultrasonic tips for the root end preparation under microscope in the early 1990s, the use of ultrasonic device in endodontics has become more popular over the years and has expanded to multiple applications. Some of the common applications include access refinement, locating calcified canals, removal of pulp stones, removal of intracanal obstructions, increasing efficacy of irrigating solutions, retrograde preparations.

Since 2004, Korean Academy of Conservative Dentistry (KACD) has required the microscope for training specialty program of the Conservative Dentistry. KACD recommended the use of ultrasonic device not only in surgical endodontic treatment but also in conventional endodontic treatment.

### \*Ultrasonic devices for micro-endodontic treatment

1. Introduction of ultrasonic system
2. Ultrasonic tips for micro-endodontics
  - 1) For nonsurgical endodontic treatment
    - CPR tips (Spartan), BUC tips (Spartan), ProUltra Endo tips (Dentsply), P tips (PlasticEndo), T's tips (B&L Biotech), ST tip (Osada), SCP tips (Osada)
  - 2) For surgical endodontic treatment
    - KiS tips (Spartan), ProUltra Surgical Endo tips (Dentsply), 4 series (CT, Slim Jims, UT, BK ; SybronEndo), ST tip (Osada)
3. Clinical application of Ultrasonic tips
  - 1) Cleaning of pulp chamber, locating canals
  - 2) Removal of posts/instruments
  - 3) Irrigation
  - 4) Retropreparation

Seung-Ho Baek

Dept. of Conservative Dentistry, Seoul National University

28 Yeongeon-dong, Jongno-gu, Seoul 110-768, Korea

E-mail : shbaek@snu.ac.kr

## 「Enamel Proteins の歯科保存領域における応用を考える」 コーディネーターとして

明海大学歯学部機能保存回復学講座歯内療法学分野

中村幸生

Enamel proteins は、ameloblast が分泌するタンパク質として知られている。最も多く分泌される amelogenin は、Enamel proteins の約 90% を占めるといわれている。この amelogenin を主成分として商品化された Emdogain® Gel は、歯周疾患に罹患した患者に対する外科手術に用いられることで、セメント質形成と歯根膜再生のために間葉系細胞の分化を誘導することが報告され、臨床応用が広く行われるようになった。

amelogenin は、歯冠形成中においてエナメル器から髄周象牙質形成前の differentiating odontoblasts に転移されることが明らかにされている。このことは、amelogenin が象牙芽細胞の分化と続発する予成象牙質形成に関与することを示している<sup>1)</sup>。また、ほかの Enamel proteins として、enamelin, ameloblastin (sheathlin, amelin), tuftelin などわずかな量として確認されている。ところが量的に少なくとも、これらのタンパク質がきわめて重要な存在であることが、近年の研究により明らかにされてきた。たとえば、amelin (sheathlin, ameloblastin) は、間葉系の細胞分化における signaling mechanisms として注目されており、細胞分化と mantle dentin 形成に関与していると思われる<sup>2)</sup>。このように、分子生物学的研究手法の発展により、Enamel proteins がエナメル質の石灰化のみならず、細胞の増殖や分化に影響を与える機能を有したタンパク質としての側面が大きく注目されるようになってきた。では、amelogenin をはじめとする Enamel proteins が担っている重要な役割・能力とは、なんだろうか。そして今後の歯科治療において、どのような展開が期待できるのであろうか。今回、幸いにもこのようなテーマを解き明かすことができる第一線でご活躍されている 3 人の先生方にシンポジストとしてお集まりいただくことができた。本シンポジウムでは、生化学分野からの基調講演を大井田先生に、そして、歯周病分野からは和泉先生に Emdogain® Gel の臨床応用について、さらに濱本先生からは、歯の移植・再植に関する研究を中心にご講演をお願いしてある。私も Enamel proteins を用いた修復象牙質の形成誘導についての講演を行い、1 人のシンポジストとして参加させていただこうと考えている。

本シンポジウムを日本歯科保存学会で行うことにより、科学的根拠に基づいたうえで、今後の歯科臨床に大きく貢献する Enamel proteins の応用が構築されていくことを願っている。

### 文献

- 1) Inai T, Kukita T, Ohsaki Y, Nagata K, Kukita A, Kurisu K : Immunohistochemical demonstration of amelogenin penetration toward the dental pulp in the early stages of ameloblast development in rat molar tooth germs ; Anat Rec 229, 259—270, 1991.
- 2) Fong CD, Slaby I, Hammarstrom L : Amelin : an enamel-related protein, transcribed in the cells of epithelial root sheath ; J Bone Miner Res 11, 892—898, 1996.

## Enamel Proteins に含まれる生理活性物質

鶴見大学歯学部生化学講座

大井田新一郎

近年、歯科治療に用いられているエムドゲインゲル (Emdogain® Gel) の主成分はブタ幼若エナメル質から抽出されたエナメルタンパク質 (Enamel proteins) である。エナメル質を形成する上皮系細胞はエナメル質形成が終了した後も、ヘルトビッチ上皮鞘として歯根形成部位に残存し、この部位でも微量のエナメルタンパク質が分泌されていることが知られている。このような事実からエナメルタンパク質が歯周組織の形成にも関与しており、歯周組織の再生治療に有効ではないかという考えに基づいて、エムドゲインの開発がなされた。

それでは、エナメルタンパク質とは何か。エナメルタンパク質は複数のタンパク質の混合物で、最も多く含まれるのはアメロゲンである。その他にエナメルリン、アメロプラスチン (シースリン) と呼ばれる基質タンパク質が存在し、これらのタンパク質により一定の厚みと形態をそなえたエナメル基質が形成され、やがてこれらの基質タンパク質が分解吸収されるとともに、ヒドロキシアパタイトの結晶が成長し、硬いエナメル質が完成すると考えられている。形成期のエナメル質ではエナメルタンパク質は乾燥重量で20%を占めるが、石灰化の進行とともに減少し、成熟したエナメル質では0.2~0.3%となる。エナメルタンパク質にはこれらのタンパク質を分解するための分解酵素であるEMSP-1 (KLK4) やエナメリシン (MMP-20) も含まれていることが知られている。これらの比較的多く含まれる既知のタンパク質が歯周組織の再生に有効に作用しているのか、それともまだほかに重要な役割を果たしている微量なタンパク質が含まれているのだろうか。

そこで私たちは、マウス骨髄由来の未分化な培養細胞やヒト歯根膜由来の培養細胞を用い、エナメルタンパク質中に存在する、細胞分化に関与する活性物を検索した。その結果、エナメルタンパク質中にはマウス骨髄由来の細胞を硬組織形成細胞に分化させる成分 (Iwata T, Oida S, et al : J Dent Res 81, 387-391, 2002) とヒト歯根膜由来の培養細胞を硬組織形成細胞に分化させる成分 (Nagano T, Oida S, et al : J Periodont Res 39, 249-256, 2004) の少なくとも2種類の活性物質が存在することを確認し、それらの物質がBMPとTGF- $\beta$ である可能性が高いことを報告した (Suzuki S, Oida S, et al : J Dent Res 84, 510-514, 2005)。BMPとTGF- $\beta$ は発生過程でさまざまな組織の分化誘導に関与していることが知られている重要なタンパク質である。

また、最近の研究でアメロプラスチン (シースリン) やアメロゲニンの分解物である小さなペプチド断片にも、歯根膜細胞の分化を促進するような生理活性が存在することが明らかとなった (Kakegawa A, Oida S, Fukae M, et al : J Periodont Res, 2010. in press)。これらのペプチド断片による硬組織形成促進効果はBMPやTGF- $\beta$ の効果に比べると非常に弱く、またBMPやTGF- $\beta$ の特異的阻害剤でも抑制されなかった。これらの結果から、ペプチド断片はBMPやTGF- $\beta$ などの分化誘導因子とは異なる反応経路で細胞分化を促進していることが示唆された。

今後さらに、エナメルタンパク質中の未知の構成成分を追求し、その生物学的作用を、培養系および動物実験系で詳細に検討したい。その結果、これらの有効成分を適切に組み合わせることによって、さらに効果的な歯科再生治療剤の開発が可能になるのではないかと考えている。



## 歯周治療における Enamel Proteins の臨床応用：先進医療の結果から考える

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 生体硬組織再生学講座 歯周病学分野

和泉雄一

21世紀に入り最も注目されている医療の一つとして、損傷した生体組織・臓器を再生修復する再生医療が挙げられる。歯科医療にもその応用・発展が期待されているが、すでにこれらの技術の有用な展開が歯周治療分野において始まっている。

歯周治療の目標は、第一に歯面から bacterial plaque を取り除くことによって、疾患の進行を止めることである。次に、歯周局所の環境を整え、炎症によって破壊された歯周組織を健康な元の状態に回復させることである。このような観点から、歯周治療は、検査、診断、治療計画の立案、患者への compliance、歯周基本治療、再評価、歯周外科治療、咬合・審美性の回復、SPT あるいは maintenance と進められていく。これまでの原因除去療法では、疾患の進行を止めることはできるが、破壊された歯周組織を完全に回復することは不可能である。しかし、近年の再生・修復治療の進歩により、炎症によって破壊された歯周組織を元の健康な状態に回復させるという目標に、徐々に近づきつつあるといっても過言ではない。

現在、日本における日常臨床で選択可能な歯周組織再生治療としては骨移植術、GTR 法、enamel matrix derivative (EMD) 適用の3つがある。

Stahl らは、歯根面を脱灰して象牙質のコラーゲンを露出させることにより、周囲組織中の間葉系細胞がセメント芽細胞に分化し、セメント質の沈着を促進する可能性を示唆した。それ以来、さまざまな動物実験が行われ、クエン酸やテトラサイクリンによる歯根面脱灰後に治癒反応が向上することが組織学的に示された。しかし、臨床研究からは有効な結果が得られなかった。

近年、歯周組織再生を促進するために歯周外科手術中に酸処理した歯根面に EMD を適用する方法が導入された。これは、歯根の発生段階において内外エナメル上皮が根尖側に移動し形成される Hertwig's 上皮鞘 (HERS) より分泌されるタンパクである。歯根形成段階において、HERS の細胞はセメント質の形成に先立ち歯根面に Enamel proteins を沈着させ、そのタンパクがセメント質形成を誘導するという知見に基づいている。このことから、EMD の歯周組織再生の可能性を Hammarström らが検討し、Biora 社 (Sweden) により、このタンパクを幼若ブタ歯胚より精製、商品化されたのが Emdogain<sup>®</sup> である。現在、日本においては安全性と利便性を高めた prefilled syringe type の Emdogain<sup>®</sup> Gel として使用可能である。私どもは、その臨床的評価を行い、吸収性膜を用いた GTR 法と変わらない成績を取めた。その結果を基に、2007年10月に先進医療として「歯周外科治療におけるバイオ・リジェネレーション法」が厚生労働省より認可された。先進医療として行われた Emdogain<sup>®</sup> Gel による歯周組織再生治療の臨床成績を評価した結果、臨床的およびエックス線学的に歯周組織再生が国内外の報告と同程度に得られていることが確認された。また、CAL の値が大きく、二壁性以上の骨欠損において、良好な成績が得られた。このことから、骨欠損が深く、骨壁数が多いほど歯周組織再生が期待できることが示唆された。

この Emdogain<sup>®</sup> Gel の利点として、歯周外科手術時に歯根表面に塗布するだけという、術式の簡便さが挙げられる。この術式は、歯周組織再生治療のあるべき姿の一つを私どもに示してくれたといっても過言ではない。今回のシンポジウムでは、Enamel proteins のさらなる臨床応用について討議したい。

## Enamel Protein を用いた基礎研究と臨床応用 —移植・再植歯の歯根膜再生に関する研究を中心に—

山形大学医学部附属病院歯科口腔・形成外科

### 濱本宜興

歯の移植・再植後の治癒は歯根膜損傷の程度に大きな影響を受ける。歯根膜損傷が大きいと、術後に癒着や歯根吸収が生じる。そこで、傷害を受けた歯根膜を有する移植・再植歯に、エナメル基質由来物質：Emdogain®（以下、EMD）の応用を試みたところ、興味ある結果を得た。本シンポジウムでは、EMD を用いた移植・再植歯の歯根膜再生に関する研究を報告するとともに、セメント質発生とエナメルタンパク質 Enamel protein (EP) の関連を示唆する基礎的研究も紹介したい。

まず対照実験として、健全な歯根膜をもつ移植歯の治癒過程について、ヒト臨床症例と動物実験の結果を比較した。ヒト 32 症例における移植から歯根膜空隙出現までの期間は平均 3.7 カ月であり、歯槽硬線出現までの期間は平均 7.6 カ月であった。動物実験では、4 週齢ラットの上顎第二臼歯を腹部皮下結合組織に即時自家移植した。その結果、2 週間後には歯根膜空隙と板状の歯槽骨が出現した。歯槽骨のうち歯槽硬線に相当する部分は、歯根膜によって誘導される可能性が示唆された。

#### 1. 歯根膜傷害を受けた移植歯の歯根膜再生と EMD：動物実験

ラット実験において、6 歯を 30 分間室温乾燥して腹部皮下組織に移植し、2 週または 4 週後に観察したところ、全歯で歯槽骨の再生は観察されず歯根吸収が発生した。別の 8 歯について、乾燥後に EMD を塗布して移植したところ、進行性歯根吸収の発生は 1 歯で、歯槽骨を含めた歯根膜の再生は 5 歯に認められた。このことから EMD は傷害を受けた歯根膜の再生に効果があることが示唆された。ただし、変性組織が多い部位では歯槽骨が再生しなかった。

#### 2. 歯根膜傷害を受けた移植歯の歯根膜再生と EMD：臨床症例

EMD 使用目的：挺出により部分的に歯根が露出し、健全歯根膜の範囲が少ない移植歯において、露出歯根上に歯根膜を再生させることを目的とした。方法：EMD による歯根膜再生治療と歯牙移植手術を組み合わせた。すなわち、移植歯の抜歯前に露出歯根面を十分にスケーリング・ルートプレーニングし、次いで移植歯を抜歯し、移植窩を形成した。移植直前に EMD を塗布し、移植歯の露出歯根が歯肉弁で被覆されるように、深く移植歯を植立した。抜歯前と移植後の歯根面の移動状況を記録し、PPD (probing pocket depth) と PAL (probing attachment level) を 6 点で計測した。症例：60 歳男性、右上顎第二大臼歯を右下顎第一大臼歯部に移植。51 歳女性、左上顎智歯を左下顎第二大臼歯部に移植。結果：移植直後から治癒は良好で、平均 PPD はおおむね 2 mm で変化なく、平均 PAL はそれぞれ 3.2 mm および 1.5 mm と向上した。

#### 3. 歯根膜再生における EMD：歯周外科手術と歯の移植の比較

EMD 使用目的：歯周外科手術では深い歯周ポケットの PPD と PAL の改善が目的であり、その効果は証明されている。歯牙移植・再植では術後の癒着や歯根吸収の発生予防が目的であるが、効果は不明瞭である。EMD により歯根膜再生を期待する部位の状態：歯周外科手術ではスケーリング・ルートプレーニング・化学処理により壊死組織は徹底的に除去される。歯牙移植・再植の場合は歯根表面には再生細胞と変性・壊死組織が混在している。

#### 4. モルモット臼歯セメント質発生と EP、ラットヘルトビッチ上皮幹細胞によるエナメル基質 (EP) 産生誘導

EP がセメント質発生に関与することを示唆する基礎実験は多数発表されている。そのなかで私が実施した二つの実験について、概要を報告する。モルモット臼歯セメント質発生と EP：モルモット臼歯は無根歯で、以下の 3 種類のセメント質が観察された。1；エナメル質上の無細胞セメント質 (cementum pearl)。2；軟骨様セメント質 (cartilage like cementum)。3；象牙質上の無細胞セメント質 (acellular cementum)。これらのセメント質の発生には EP が関与している可能性が示唆された。この研究は Sweden, Karolinska Institute において Lars Hammarström 教授指導の下に行われた。ラットヘルトビッチ上皮幹細胞による EP 産生誘導：30 匹のラット臼歯の髓腔を開放して根尖病巣を誘発し、3, 7, 14 日後に観察した。7 日後にはヘルトビッチ上皮幹細胞は板状から島状に形態変化し、EP を分泌した。



## Enamel Proteins を用いた修復象牙質の形成誘導について

明海大学歯学部機能保存回復学講座歯内療法学分野

中村幸生

齲蝕や外傷により、さまざまな形で歯髄は損傷を受けることになる。特に露髄を伴う場合、歯髄に対する処置として水酸化カルシウムが主に用いられてきた。しかし、水酸化カルシウムは高アルカリという性質から、歯髄組織を傷つける形で修復象牙質形成の引き金になるにすぎない。また水酸化カルシウムは、dentinogenesis という観点からすれば specific factor ではないことが明らかにされている。

予知性のある修復象牙質の形成が短期間に、しかも大量に誘導できるならば露髄を伴う症例の治療はもちろん、歯科臨床を大きく変える可能性がある。われわれの研究グループは、水酸化カルシウムに代わる新たな治療法として、Enamel proteins による biological induction としての修復象牙質形成に関する研究を行ってきた。すなわち、enamel matrix derivative (EMD) を露出歯髄に用いた場合、大量の修復象牙質の形成が短期間に生じることを明らかにした。これらの研究のなかで、Enamel proteins の一つである ameloblastin が、損傷を受けた歯髄の創傷治癒と修復象牙質形成に大きく関与していることが示唆された。そこで、ameloblastin fusion protein (以下、rAmbn) を断髄した歯に局所投与した場合、歯髄の創傷治癒と修復象牙質形成にどのような影響を及ぼすかを明らかにするために実験を施行した。実験は、17匹の adult miniature pig における 28本の下顎中切歯を用いて行われた。断髄された歯髄組織は、rAmbn もしくは水酸化カルシウムで覆われ、術後2、4、8週間の変化を病理組織学的および免疫組織学的に検索した。rAmbn で治療された歯は、短期間に大量の修復象牙質の形成が断髄面に認められた。また、観察された修復象牙質の形成量は、水酸化カルシウムで治療された症例と比べ有意に多かった。免疫組織化学的には、新生された硬組織は象牙質と同様の所見を呈していた。これらの結果は、ameloblastin が修復象牙質の形成誘導において一つの signal であり、結果として biological active pulp-dressing agent としての潜在能力を有することを示唆するものと考えている。

本シンポジウムにおいて、EMD および rAmbn などによって形成誘導された修復象牙質を水酸化カルシウムの症例と比較検討し、損傷された歯髄に対する Enamel proteins 応用の可能性を考えてみたい。

### 文献

- 1) Nakamura Y, Slaby I, Spahr A, Pezeshki G, Matsumoto K, Lyngstadaas SP : Ameloblastin fusion protein enhances pulpal healing and dentin formation in porcine teeth ; *Calcif Tissue Int* 78, 278—284, 2006.
- 2) Nakamura Y, Slaby I, Matsumoto K, Richie HH, Lyngstadaas SP : Immunohistochemical characterization of rapid dentin formation induced by enamel matrix derivative ; *Calcif Tissue Int* 75, 243—252, 2004.

## 「機能性修復材料開発戦略のベクトルを探る」 ねらいとオーバービュー

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 口腔制御治療学分野

斎藤隆史

近年の「接着歯学」の確立・発展に伴って、接着性修復材料およびそれを用いた接着技術開発が飛躍的に進展し、それがMI (Minimal Intervention) コンセプト普及の原動力および推進力となった。そして今や「接着」は歯科医療を広く強固に支える主要技術の一つとなっている。材料の開発戦略に関しては、従来から「接着性能」に主眼をおいた材料開発が進んできたが、最近では、抗菌性モノマーの配合により接着界面の耐久性向上を目指した材料が登場し、それを機に抗う蝕性をはじめとする「高機能性」に関しても材料開発の視点が拡大してきたといえる。さらには、接着性材料に象牙芽細胞分化機能を付与し、修復象牙質形成促進を目的とした生体活性型材料の開発の試みもみられる。いずれにしても、これまでにみられなかった付加価値を備えた機能性修復材料の今後の開発戦略が、「予知性の高い修復治療」確立につながる重要なものであると考える。

そこで本シンポジウムでは、機能性修復材料開発およびその評価に取り組んでいる5名のシンポジストにそれぞれの研究内容をお話いただき、ディスカッションを通じて機能性修復材料開発戦略の今後の方向性と可能性について議論することを企画した。

まず、吉田先生には、歯質接着の分子メカニズム理論を基盤にして合成した多糖誘導体リン酸化プルランによる機能性材料開発戦略がさまざまな医療製品の高機能化につながる可能性について述べていただく。西谷先生には、象牙質有機質分解制御に視点をおいた機能性材料による接着界面の耐久性向上の取組み、生物学的直接覆髄材料開発の取組みについて、伊藤先生には、象牙質再石灰化による接着界面の耐久性向上を目指した材料開発について述べていただく。次に、小竹先生には、高い接着性を示す自己接着性フロアブルコンポジットレジン開発における機能付与の可能性について述べていただく。最後に、鈴木先生には、修復象牙質誘導性・接着性を有する修復材料開発の取組みについて述べていただく。

本シンポジウムが、単に次世代修復材料開発戦略のベクトル提示・議論にとどまらず、これまでに蓄積された豊富なデータを基に、ネットワーク研究の多角的な展開の契機になれば幸いである。

## 接着技術の応用による医用材料の高機能化

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体材料学分野

吉田靖弘

歯質接着は、コンポジットレジン修復、補綴物装着、矯正治療、動揺歯の固定など今日の歯科医療の大半に応用されている。残存歯質の保存や審美に対する意識向上もあいまって、歯質接着性材料を用いる機会は今後ますます増えるであろう。しかし、歯科医療の発展に貢献してきた接着歯学も、研究という面では、昨今、ある種の閉塞感が漂いつつあるのもまた事実である。確かに、機能性や操作性に優れた接着材料の開発は、長年にわたって歯科材料メーカーが注力してきた課題ではあるが、臨床家や研究者にとって歯質接着性材料はすでに成熟期を迎えた材料との感があるのも否めない。しかしながら、この点に関しては人工歯根すなわち口腔インプラントも同じである。現在のインプラント治療は成功率90%を超え、臨床的に確立された治療との見方も強い。それにもかかわらずインプラントは、組織再生を専門とする生命科学分野から素材を扱う材料学分野まで、幅広い領域の研究者が連携して現在も研究開発が進められている。したがって接着歯学においても、ほかの分野と密に連携してさらに高機能な材料の開発に挑むとともに、培った技術をほかの医用材料に応用していくなどの試みが必要となろう。

演者らは、これまで歯質接着のメカニズムを解明すべく分子レベルの解析を行い、その知見や技術を歯科用修復材料の高機能化に、また、医学・工学との共同研究を通してさまざまな医用材料の開発へとつなげてきた。たとえば、歯質接着の理論を基に設計・合成した多糖誘導体であるリン酸化プルランは、人工骨や骨セメント、ドラッグデリバリーシステムのキャリア、人工関節や人工歯根の表面処理などさまざまな医用材料の高機能化へとつながるポテンシャルを有し、幅広い応用が期待されている。本講演では、接着歯学より得た知見の応用例として、演者らがこれまで取り組んできた医用材料の高機能化研究について紹介する。

### 1. 硬組織用セメント

接着技術の異分野への応用として、まず、思いつくのは整形外科で用いる人工骨や骨セメントである。生体親和性が高く、生体吸収性で、硬組織再生能があり、さらに薬剤徐放能があれば、整形外科だけでなく、歯科においてもインプラント周囲炎や歯周病治療、また直接覆髄への応用も期待できる。

演者らは、アパタイト接着性の多糖複合体であるリン酸化プルランを含有した高機能性硬組織セメントの開発に取り組んできた。その結果、この新しいセメントは、生体内で吸収されて骨を再生することが明らかとなった。さらに、アパタイトやチタンに対して市販のリン酸カルシウム骨セメントやPMMA骨セメントをはるかに超える接着強さを示した。また本材は、配合により抗がん剤や抗菌物質の徐放を制御することができ、硬組織治療に用いる薬物のキャリアとしても有用であることが明らかとなった。

### 2. ドラッグデリバリーシステム (DDS)

薬剤濃度を検知して薬物を徐放する機能は、抗がん剤や抗菌物質など副作用が強い薬剤にはきわめて有用な機能である。しかしながら、そのようなセンサー機能を有したDDSはいまだ開発されておらず、関連する報告すら全く見受けられない。演者らは、リン酸化プルランを抗菌物質CPCのキャリアとして用いると、類似機能を謳った市販口腔ケア製品の約10万倍の優れた抗菌効果を発揮することを明らかにした。さらに、リン酸化プルランとCPCをある特定の比率で混和すると、CPCが臨界ミセル濃度より低くなったときに両者の会合状態が変化すること、またこの現象が機能発現と強く関係することを見いだした。

### 3. インプラントの表面処理

骨に接着する部位と上皮に接する部位を分けることができれば、口腔インプラントの高機能化につながる。演者らはチタン表面をリン酸化プルランなどで処理することにより、骨再生に優れる部位や上皮系細胞が特異的に接着する部位を作ることに成功した。

## 接着性修復材料を応用した機能性材料の開発

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野

西谷佳浩

近年の「接着歯学」の発展は目覚ましく、今日の歯科医療における接着技術は臨床上必要不可欠なものとなっている。今後もさらに優れた接着性を発揮する材料開発が行われているなかで、抗菌性モノマーに代表される付加価値を接着性修復材料に応用する試みがなされている。

私どもは、接着耐久性の向上に貢献する機能性修復材料としてクロルヘキシジンに着目し、2004年からジョージア医科大学と共同研究を行っている。米国では、歯周治療の用途以外にう蝕治療における窩洞に対する歯面清掃剤としてクロルヘキシジンが多用されており、クロルヘキシジン水溶液を接着システムに追加して塗布することによって長期中浸漬後も接着強さの低下を抑制することが明らかとなっている。しかしながら、接着システム中にクロルヘキシジン水溶液による歯面処理を追加することは歯面処理のステップを増加させることから、これまでに1ステップボンディングシステム中にクロルヘキシジンを配合した場合の効果について検討を行ってきた。

接着耐久性の低下に影響する因子の一つとして、象牙質内因性のコラーゲン分解酵素が注目されている。象牙質をマイルドな酸でエッチングすることによってコラーゲン分解酵素が活性化される一方で、酸処理後の象牙質にボンディングレジンが浸透して重合することによって酵素活性は低下することを明らかにした。ボンディングレジンにクロルヘキシジンが配合されている場合においては、2年間水中浸漬後においても酵素活性および接着強さの低下が抑制される可能性が示された。

また当分野では、生物学的直接覆髄法に応用可能な機能性修復材料として、接着性レジンシステム中にコラーゲンを固定化した高分子化合物（エチレンビニルアルコール，EVA+C）を配合した場合の修復象牙質形成反応についても検討を行っている。

直接覆髄において、歯髄腔を狭窄させない部位に象牙質を再生することを目標として取り組んでおり、露髄点に歯髄細胞を誘導できるスペースを確保し、誘導された細胞が象牙芽細胞へと分化することによって失われた象牙質を再生する可能性を追求している。象牙質の石灰化は、リン酸カルシウム結晶がコラーゲンに代表される有機性基質へ沈着することによって生じる。EVA+C上においても歯髄細胞は石灰化の足場となるコラーゲンを産生できることから、EVA+Cを露髄面に応用した場合、EVA+Cと歯髄の間に壊死層を生ずることなくEVA+C表面上で修復象牙質が形成される可能性が高いと考えている。また露髄点へ歯髄細胞を誘導するスペースメーカーにアルギン酸ゲルからなる生体吸収性材料を応用した場合には、覆髄材は生体内で消失し、露髄点から歯冠側にも修復象牙質が形成されており、アルギン酸ゲルが象牙質形成に関与する細胞の誘導および象牙質形成の足場としての機能を担った可能性が考えられた。

今後さらに、接着耐久性の向上に貢献する機能性修復材料および生物学的直接覆髄法に応用可能な機能性修復材料の開発に取り組んでいきたいと考えている。



## バイオアクティブ材料による象牙質再石灰化

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野

伊藤修一

近年、う蝕の「早期発見，早期治療」ではなく，初期う蝕に対して予防，管理を実践することが歯の寿命を延伸するという概念が広まりつつある。これは、「う蝕＝切削治療」の概念からの脱却を意味し，歯科医療に携わる者にとつての最終目標でもある。しかしながら，不幸にもう蝕が進行して修復処置が必要となる場合や，修復処置を行っても二次う蝕が発生し再修復処置が必要になる場合には，再び修復材料に頼らざるをえないのが現状である。

中林らが樹脂含浸層の概念を発表して以来，接着修復材料は急激に進歩し，近年，保存修復学分野において，ミニマルインターベンション（MI）の概念の普及とともに接着性修復材料の開発が著しく進展した。従来から，接着性修復材料の研究においては，材料成分がみずから歯質組織に入り込む「拡散性」と歯質組織内への拡散を促進させる「浸透性」に加え，材料の「破壊強度」に重点をおいた接着性能の評価が行われ，それらを基に材料開発が進んできた。さらに最近では，これらの視点に加え，フッ素化合物や抗菌性モノマー配合による抗う蝕性，歯質との化学的結合を目的とした接着性モノマーの開発，配合フィラーによる抗プラーク性等の「機能性」を付与した材料の開発が進んでいる。このため旧来の窩洞形態においては，辺縁漏洩の低減と接着強度の向上によって，脱落や二次う蝕等の不快事項が著しく減少した。しかしながら，MIの概念に立脚した窩洞，つまり切削量が少なく保持形態が付与されない窩洞においては，安定した長期耐久性の評価などの報告がなく，いまだ改善すべき課題が残っている。また，一部の接着性修復材料の *in vitro* および *in vivo* 評価においては，経時的に接着界面が劣化し，接着強さが低下することが報告されている。修復材料の寿命は，樹脂含浸層の質に大きく左右される。機能的により優れた接着を得るためには，接着性モノマーの浸透性および重合率の向上による構造欠陥のない樹脂含浸層の形成，不完全な樹脂含浸層の形成あるいは，経時的に不完全な樹脂含浸層に陥った場合は，ナノスペース中のコラーゲン線維の再石灰化による，構造欠陥の補修を行うことができる修復材を開発しなければならない。

一方，接着の対象となる象牙質においては，象牙質リントンパク質が石灰化・再石灰化に重要な役割を果たしていることが明らかになっている。これまでわれわれは，結合型象牙質リントンパク質あるいは脱灰象牙質基質の，準安定溶液中での高い再石灰化誘導能について報告してきた。これらの知識・技術の蓄積を基に，象牙質再石灰化誘導活性を有する接着性モノマーの開発を行っている。良好な研究結果を得ており，高い象牙質再石灰化誘導能を有した接着性モノマー，ボンディング材の開発ができるものと考えており，その一部を紹介する。

また，S-PRG フィラーが開発され臨床に用いられている。これは，フィラー表面に安定したガラスアイオノマー相を形成させる技術である。S-PRG フィラーは，優れたフッ素徐放性を有することが報告されており，併せてリチャージ機能ももっている。また，フッ素だけではなく，シリカ，ストロンチウムなどの多くのイオンを含有し，それらを放出することも特徴の一つであり，特にシリカは，高い象牙質再石灰化誘導をもつことが知られている。また，ストロンチウム成分が骨吸収抑制および骨形成促進などの薬理作用を有し，骨補填剤への応用が期待されており，歯科においても同様である。これらの象牙質石灰化への影響についても紹介する。



## 自己接着型フロアブルコンポジットレジンの可能性

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学

小竹宏朋

コンポジットレジンにおけるボンディングシステムの歯質接着技術は日進月歩であり、多くのボンディングシステムの研究および開発がなされている。ボンディング材が歯質に対して強固に接着するにはスメア層を脱灰し、歯質へボンディングモノマーが浸透し、そして十分に重合することである。したがって、3ステップボンディングシステムは歯質に対し、これらを満たすシステムである。しかし、象牙質に対しては脱灰されすぎることや複雑な操作手順（テクニクセンシティブ）により臨床的には安定した接着が得られなかったため、操作ステップを簡略化したものが開発・市販されている。2ステップのボンディングシステムであるセルフエッチングプライマーボンディングシステムは現在最も信頼されているボンディングシステムであるが、さらに進化した1ステップボンディングシステムは、1液性で、そのボトルの中に接着性酸性モノマー、水、溶媒、触媒等が混合された溶液である。溶媒に溶けた接着性モノマーが、処理時間中に歯質を脱灰・浸透し、乾燥することにより溶媒を取り除き重合すると考えられ、理論上はとてもよくみえるが、近年の報告では接着力が安定しないなどの問題点が指摘されており、技術向上が望まれている。

演者らは1ステップボンディングシステムからさらに、簡略化したゼロステップともいえるべき、自己接着型のコンポジットレジンの可能性（テクニカルセンシティブのさらなる減少）を模索した。過去の本学会学術大会で「自己接着型フロアブルコンポジットレジンの可能性について」と題して、引張り接着強さ試験の結果を報告したが、その問題点が浮かび上がってきた。自己接着型コンポジットレジンの中に接着酸性モノマーを配合し、歯質表面に作用させてスメア層を除去することを設計した。しかし、自己接着型フロアブルコンポジットレジンではスメア層を除去できず、なんらかの工夫が必要であることが判明した。一方、昨年、アメリカでは Pentron 社から Fusio™ Liquid Dentin (Fusio) が開発・発売されたことを知り、Fusio を入手し、操作法等を確認したところ、充填時に攪拌操作が指示されていた。したがって、Fusio の引張り接着強さ試験を行い、攪拌操作した群としなかった群の接着強さを測定した結果、攪拌操作した群が有意に向上していたが、スメア層は完全に除去することができなかった。つまり、自己接着型フロアブルコンポジットレジンではスメア層除去という難題を抱えたままであった。しかし、自己接着型コンポジットレジンでの完成は多くの臨床家の理想であり、市場のニーズもあり、自己接着型フロアブルコンポジットレジンでの完成に向けてさらなる努力が必要であると考えている。

## 塩化カルシウム、象牙質マトリックスタンパク質 1 (DMP1) ならびにリン酸カルシウム塩配合試作接着性レジン直接歯髄覆罩システムの修復性象牙質形成促進効果

日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

鈴木雅也

当講座では、接着性レジンシステムについて歯質との接着性を高めるだけでなく、露髄または不顕性露髄部に積極的に修復性象牙質の形成を誘導する試みを行っている。今回はそれら研究成績の要点をまとめて発表したいと思う。

象牙質マトリックスタンパク質 1 (DMP1) 由来合成ペプチドである pA (ESQES [Glu-Ser-Gln-Glu-Ser]) ならびに pB (QESQEQDS [Gln-Glu-Ser-Gln-Ser-Glu-Gln-Asp-Ser]) は、骨芽様細胞株 (MC3T3-E1) を用いた *in vitro* の培養系で、pA と pB を等量混合し、さらに  $\text{Ca}^{2+}$  を加えた系で石灰化能が強く発現することが確認され (東京農工大: 松崎, 朝倉, 鶴見大: 大井田, クラレメディカル: 山内), 骨や歯の硬組織再生への利用が期待されている。

そこで当講座の加藤らは、*in vivo* でラット露髄面に対する修復性象牙質の形成促進効果を確認するため、接着性レジンシステム (メガボンド®, クラレメディカル) を担体として  $\text{CaCl}_2$  (10wt%) 配合プライマー, pA・pB (10wt%) 配合プライマーおよびリン酸カルシウム塩 (OHAp, 10wt%) 配合ボンディング材からなる試作システムで直接歯髄覆罩した場合の創傷治癒態度について、病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検討を行った。その結果、観察期間 14 日では  $\text{CaCl}_2$  配合プライマーと pA・pB 配合プライマーを併用すると硬組織形成量が最も多く、特異な三層構造からなるデンティンブリッジを形成し、創傷治癒にいたることを観察した。デンティンブリッジを形成した試料数は水酸化カルシウム製剤を用いた試料数より多く、組織浸透性の高いプライマーに配合したことで、修復性象牙質は露髄部表層にとどまらず比較的深部に形成される傾向にあった。また、歯髄組織の炎症性変化は全く認められなかった。 $\text{CaCl}_2$  配合プライマーおよび pA・pB 配合プライマーを個々に用いたときは、2つを併用した試料に比べ形成量は少なかった。このとき、pA・pB 配合プライマーより  $\text{CaCl}_2$  配合プライマーのほうが形成量は多かった。

本システムの象牙質微小引張り接着強さは  $15.4 \pm 5.4$  MPa で、コントロールの  $52.7 \pm 8.7$  MPa に比較し有意に低い値となった。また、pA・pB 配合プライマーよりも  $\text{CaCl}_2$  配合プライマーのほうが接着強さへ悪影響を与えた。

そこで、接着システム本来の接着強さの獲得ならびに製品生産コスト削減のため、 $\text{CaCl}_2$  および pA・pB の配合量を変えて再度創傷治癒形態の検討を行った。配合率はそれぞれ  $\text{CaCl}_2$  (1, 5wt%), pA・pB (0.1, 1, 5wt%), OHAp (10wt%) とした。その結果、経過観察 14 日では試料間にばらつきがあるものの、観察期間 28 日ではすべての組合せで高度に修復性象牙質の形成を認めた。

象牙質接着強さに関しては、配合量が  $\text{CaCl}_2$  (5wt%) と pA・pB (5wt%) のとき  $38.1 \pm 8.7$  MPa まで値が回復し、 $\text{CaCl}_2$  (1wt%) と pA・pB (0.1wt%) あるいは  $\text{CaCl}_2$  (1wt%) と pA・pB (1wt%) の組合せであればコントロールに比較して統計学的に有意差を認めなかった (それぞれ  $55.3 \pm 8.5$  MPa,  $57.8 \pm 8.1$  MPa)。

本試作接着性レジンシステムにより、歯質接着性を有しながらも露髄面に高度かつ早期にデンティンブリッジを形成し創傷治癒にいたることが確認され、直接歯髄覆罩から修復までをこのシステムで行える可能性のあることが示唆された。今後の課題としては、修復性象牙質形成のより露髄表層部への誘導、層状に形成される修復性象牙質の長期的な治癒経過、歯質接着材としての耐久性などについて追加検討する計画である。

## Research perspectives based on the remineralization concept

Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine, Kanagawa Dental College

Yoshiharu Mukai\* and Toshio Teranaka

Incipient carious lesions in both enamel and dentin take the form of subsurface lesions. At this stage, we can induce remineralization by preventing plaque accumulation and utilizing fluoride together with calcium and phosphate ions from saliva. The formula of hydroxyapatite is  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , but fluoroapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$ ) is generated dominantly when a slight amount of fluoride exists in the external solution, and it is enhanced under acidic conditions. This mechanism effectively inhibits demineralization and enhances remineralization. Teeth do not consist of pure hydroxyapatite crystals. There is some substitution of Mg and  $\text{CO}_3$  for Ca and  $\text{PO}_4$ , respectively. In the remineralization environment, however, the stable crystal in which  $\text{CO}_3$  substitutes for  $\text{PO}_4$  supplied from saliva, therefore the solubility decreases even without fluoride. Transversal microradiography (TMR) is a methodology for precisely quantifying the mineral content of enamel and dentin. It is widely recognized as a gold-standard methodology and a standard tool used to evaluate the reliability of QLF (Quantitative Light Fluorescence), OCT (Optical Coherence Tomography), and other systems for diagnosing caries. However, few laboratories still build this system in the Netherlands. The system is comprised of an X-ray generator and specially designed, proprietary analytic software. After tooth specimens are demineralized and/or remineralized, they are sliced and radiographed, and the software captures and analyzes the cross-sectional profiles. The output parameters include the profile of mineral content versus depth, the integrated mineral loss, the lesion depth, and the surface mineral content. In this symposium, I will explain the methodology of making samples of demineralized and remineralized teeth, the X-ray generator, the analytic software, and I will review some of the studies about the demineralization and remineralization of enamel and dentin using this system.

Yoshiharu Mukai

Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine, Kanagawa Dental College

82 Inaoka-cho, Yokosuka, Kanagawa, Japan

Zip code : 238-8580

E-mail : mukaiyos@kdcnet.ac.jp

## The gene expression analysis of engineered dental pulp tissues by using laser capture microdissection

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Tomoatsu Kaneko

We have developed a methodology of the dental pulp tissue engineering by seeding stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) in biodegradable scaffolds prepared within human tooth slices and implanting subcutaneously into immunodeficient mice. The resulting tissue presents architecture and cellularity that relatively resemble those of a physiologic dental pulp. We have also developed a methodology of analyzing relatively rare cell types within formaldehyde-fixated and demineralized paraffin embedded tissues by using laser capture microdissection. In this study, to further evaluate the characteristics of the engineered dental pulp tissue, we analyzed the expression of specific genes such as dentin sialophosphoprotein (DSPP) in odontoblast-like cells microdissected from the engineered dental pulp tissues that had been fixed with formaldehyde for 24 hours, demineralized with 10% formic acid for 5-7 days, and embedded in paraffin. The detection of DSPP mRNA in the engineered tissues suggested that SHED had a possibility to differentiate into odontoblasts *in vivo*.

Tomoatsu Kaneko

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

1-754, Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata, Japan

Zip code : 951-8520

E-mail : tomoendo@dent.niigata-u.ac.jp

## The best possible method for the regenerative endodontic procedure

Division of Conservative Dentistry, Seoul National University

Woo-Cheol Lee

Regenerative endodontic procedure (REP) is a treatment option to replace damaged pulp tissue with the viable tissue which restores the normal function of the pulp-dentin complex. Possible reason for doing REP is not clearly known, however, clinicians perform REP in order to recover the histological structure as well as function of the traumatized and diseased tooth so that this tooth can restore its original root shape and thickness.

For this purpose, several treatment strategies have been suggested. In this regard, the application of tri-antibiotics, calcium hydroxide, saline, mineral trioxide aggregate or even double-antibiotics was tried and they were shown to have excellent results.

In this symposium lecture, we will try to find the best method for REP by reviewing each available technique and their advantage and disadvantage.

Woo-Cheol Lee

Seoul National University, School of Dentistry, Dept. of Endodontics, Seoul Korea.

E-mail : jimin525@snu.ac.kr



## A possibility of bone regeneration through the activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

<sup>1</sup>Periodontology Section, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Sciences, Kyushu University

<sup>2</sup>Department of Clinical Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University

Etsuko Matsuzaki\*<sup>1</sup>, Fumi Takahashi-Yanaga<sup>2</sup> and Katsumasa Maeda<sup>1</sup>

Cell signaling cascades activated by Wnt proteins (collectively the Wnt signaling pathways) have been well conserved throughout evolution. As well as regulating cellular processes including proliferation, differentiation, motility and survival/apoptosis, the Wnt signaling pathways play key roles in embryonic development and maintenance of homeostasis in mature tissues. Among the described Wnt signaling pathways, the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway (canonical pathway) is best characterized and it has been shown that this signaling pathway is involved in bone biology. We previously reported that differentiation-inducing factor-1 (DIF-1), a morphogen of *Dictyostelium*, altered osteoblast differentiation, including the alkaline phosphatase (ALP) expression, by suppressing the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. For the development of new drugs targeting to the bone regeneration, we investigated the possible activators of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway on osteoblast differentiation. Dkk1 (Dickkopf-1) is a soluble inhibitor of Wnt signaling pathway by binding to the Wnt co-receptor low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) 5/6 and inhibits the bone formation. Sphingosine-1-phosphate (S1P) is well known for the signaling sphingolipid and it has been reported that S1P activated osteoblast and suppressed osteoclast, resulting in the inhibition of bone resorption. Therefore, we examined the effect of anti-Dkk1 antibody and S1P on osteoblast differentiation. We found that both anti-Dkk1 antibody and S1P activated the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and induced ALP activation and mineralization. In this symposium, summarizing our recent findings on the possible activators of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway on the osteoblast differentiation, we will show the possibility for development of bone regenerator by activating this signaling pathway.

Etsuko Matsuzaki

Department of Periodontology, Faculty of Dental Sciences, Kyushu University

3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, Japan

Zip code : 812-8582

E-mail : etsukom@dent.kyushu-u.ac.jp

## The effect of TNF- $\alpha$ on the expression of MMPs from the cells cultured from human periodontal ligament

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Kyung-Hee University

Sang-Hyuk Park

The tooth is one of the most important organs in human body, and its inflammatory process is complex anatomically and histologically, which is thought to be closely related together in neurogenic, inflammatory, osteoblastic/osteoclastic processes in dental pulps and periodontal ligaments. Several cytokines and growth factors have been introduced to be revealed to induce the expressions Matrix Metalloproteinases (MMPs) from human dental pulp tissues or cultured human dental pulp fibroblast. Moreover, cells cultured from periodontal and pulp tissues may be expected to induce MMP and TIMP with stimulation of neuropeptides or proinflammatory cytokine because those tissues are originated from different parts of teeth germ.

MMPs are a group of enzyme that can degrade practically all extracellular matrix proteins, including native collagen. They participate in normal tissue formation and remodeling, and the expression of different MMPs may be upregulated in various pathological conditions, e. g, inflammation, tumor invasion, and metastasis.

Because soft tissues which are around and inside the teeth are connected together without any obvious junctions between them, it may be meaningful to investigate whether MMPs or TIMPs are induced from the cultured cells from different tissues when they are stimulated with TNF- $\alpha$ .

In this study, MMPs and TIMPs are expressed in cultured cells from different tissues and the expression is regulated by proinflammatory cytokine, TNF- $\alpha$ .

Sang-Hyuk Park

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Kyung-Hee University

# 1, Hoegi Dong, Dongdaemun Gu, Seoul, Korea

Zip code : 130-050

E-mail : shpark94@khu.ac.kr

## 最先端の歯科バイオマテリアル

日本学術会議連携会員，大阪大学大学院歯学研究科

恵比須繁之

日本学術会議連携会員，東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

須田英明

歯科医療においては，歯科インプラント，義歯，歯冠修復材料など，歯科材料が果たす役割がきわめて大きいといえます。これまでも基礎研究さらに臨床研究を通じて，良好な臨床成績が得られる歯科材料を開発するための努力が着実かつ広範に積み重ねられてきました。旧来，当該分野においてはもっぱら口腔・顎・顔面領域の喪われた形態を回復するという観点から，より優れた材料が追求されてまいりましたが，近年においては生体に対する安全性，適合性，親和性を必須基盤とし，生体に対して積極的に働きかけ，生体が有する本来の機能を回復し健康を増進させることのできるバイオマテリアルが探求されています。

今回，日本学術会議歯学委員会・臨床系歯学分科会と日本歯科保存学会は，「最先端の歯科バイオマテリアル」と題する合同シンポジウムを企画しました。本シンポジウムにおいては，斯界の最前線で活躍しておられる研究者・臨床家に，歯科臨床現場で現在応用されている最新のバイオマテリアルについてわかりやすく説明していただくとともに，その問題点ならびに将来展望について語っていただきます。本シンポジウムの開催を通じ，最先端の歯科バイオマテリアルに関する最新情報を広く一般の方々に提供して理解を深めていただくとともに，それらの新規開発に取り組むうえでの道標といたします。

## アパタイト・コラーゲン複合体による骨再生

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 生体材料学研究室

岡崎正之

歯や骨のような硬組織を構成する無機成分がアパタイトであることはよく知られているが、その物理化学的、特に結晶学的性質についてはいまだ十分理解されているとはいえない。一方、高齢社会の現在、抜歯を余儀なくされた人々や、骨粗鬆症・骨欠損に悩む人々にとって硬組織の再建・再生は重要な課題である。われわれは、生体骨のすみやかな再建・再生促進を目指しスカフォールド生体材料の高機能化とバイオミメティックコンセプトに関して研究を続けている。本講演では、「生体に優しい材料」の観点から、アパタイトの興味ある世界を紹介するとともに、生体材料や歯科材料の生体安全性についての新規創製コンセプトについて述べてみたい。

歯や骨の硬組織は、アパタイトと有機質から構成されており、エナメル質では95%以上がアパタイトから成り、残りは水と非コラーゲン性のタンパク質である。一方、象牙質や骨は60~70%のアパタイトと30~40%のコラーゲン(主としてタイプIコラーゲン)から成る。この無機・有機複合体構造がしなやかな生体力学的性質を骨に付与していることも、材料学的にはきわめて興味深い。これら生体を構成するアパタイトを、俗に生体アパタイトと呼ぶ。生体アパタイトは、結晶性が大きく異なり、エナメル質は結晶性が非常に高く、よく配向し結晶サイズも大きい。それに対し、象牙質や骨は、結晶性が低く結晶サイズも小さい。さらに、生体アパタイトは数多くの微量元素を含んでいる。このようにアパタイト結晶中には、イオン半径に応じて種々の微量元素が置換しうる。もちろん、ハイドロキシアパタイトの結晶中には、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{OH}^-$ よりもイオン半径の大きな元素も置換しうるが、ほとんどがそれらよりイオン半径の小さい微量元素が生体アパタイトに含まれているようである。特に、炭酸イオン $\text{CO}_3^{2-}$ は数%生体アパタイトに含まれる。生体アパタイトが炭酸アパタイトとも呼ばれるゆえんである。

われわれは、この生体硬組織の物理化学的性質に焦点を当て、骨様アパタイトの創製に着手した。まず、合成温度や炭酸含有量を変えることにより、各種炭酸アパタイトを人為的に合成し、そのなかから結晶性や溶解性・化学組成が生体骨に類似した炭酸アパタイトを選択した。この骨様炭酸アパタイトと、酵素処理により抗原抗体反応を可及的に除去したアテロコラーゲンを混合することにより、炭酸アパタイト・コラーゲン複合体を試作した。骨様炭酸アパタイト複合体は、家兎を用いた動物実験において、ほかのハイドロキシアパタイトや炭酸イオンを高濃度に含む炭酸アパタイトに比べて骨再生能の高いことが確認されている。また、Mgを含む炭酸アパタイトは、より骨芽細胞様細胞の接着能が高く骨再生も促進されるという知見も得られている。さらに、この炭酸アパタイト・コラーゲン複合体にBMP2を付与したところ、顕著な骨再生促進効果が認められた。一方、血管増殖因子としてのSVVYGLRをコンビナトリアル手法により合成し複合体に修飾したところ、埋入1週目において血管新生が確認できた。

このように、本研究で創製した炭酸アパタイト・コラーゲン複合体は、骨再生スカフォールドとして有望で、骨再生能を有する部位にはそのまま適用可能であり、サイトカイン等を化学修飾することにより再生能力の衰えた患者や部位に対しても十分に再生能力を発揮しうることが示唆された。

## 高次機能性を有する修復材料

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座（歯科保存学教室）

今里 聡

歯科用修復材料には、従来から、強度、審美性、接着性、操作性、生体親和性などに優れることが第一義に求められ、長年の間に膨大な量の研究が行われてきた結果、現在は、これらの特性については臨床的に満足のいく製品が市販される状況にいたっている。一方、ティッシュエンジニアリングや再生医療が脚光を浴びるなか、歯科用修復材料に特別な付加的機能をもたせ、より高次の組織再建材料を実現しようというアプローチに注目が集まるようになってきた。すなわち、従来からの必須の特性に加えて、二次的な疾患発生への防御作用や、生体の治癒・再生を促進する作用を併せもつ、いわゆる「バイオ・アクティブ」な修復材料の開発・実用化へのシフトアップである。

修復材料への付与が有意義と考えられる高次機能の例としては、抗菌性、再石灰化能、劣化抑制能、組織再生能などが挙げられる。特に抗菌性に関しては、すでに一部実用化されて市販品も登場しているが、それ以外の機能についても、現存する市販材料にその可能性が認められるものや、今後有望な試みがいくつか報告されている。

抗菌性：演者らが開発し、実用化にいたった世界初の抗菌性を備えた接着システムは、高次機能性修復材の代表例である。第四アンモニウムに重合性基を導入した抗菌性モノマー MDPB がプライマーに配合されており、窩洞殺菌作用を発現することで、二次う蝕のリスク低減や深在性う蝕治療時の歯髄保存に有利に働く。また、海外では抗菌剤を配合したテンポラリーセメントや根面塗布材なども市販されている。ガラスコア表面にグラスアイオノマー相を形成させた Pre-Reacted Glass-ionomer (PRG) フィラーは、Sr をはじめとする多種のイオンを徐放する粒子で、本フィラーを配合したレジン表面では抗プラーク性が発揮される可能性が報告されている。さらに、前述の MDPB をはじめとする抗菌性モノマーは、重合後に固定化された抗菌成分による接触型の抗菌作用の発現をもたらすため、さまざまな修復材への応用が期待されている。

再石灰化能：フッ素のリチャージ効果に優れ、フッ素徐放のためのリザーバーとして働くと同時に、再石灰化を積極的に促進するほかのイオンの徐放能を備えた材料が市販されている。これらには、P や Ca など徐放する歯面コート材や、PRG 配合レジン等が含まれる。また、コラーゲン線維内部のミクロなレベルでの石灰化を誘導する新規技術にも注目が集まっている。

劣化抑制能：抗菌性モノマー MDPB には、Matrix Metalloproteinases 阻害効果もあることが明らかとなり、象牙質基質の分解を防御し、接着界面の劣化を抑制する可能性が示されている。また、セルフエッチングタイプの接着システムでは、樹脂含浸層直下の象牙質に酸や塩基に抵抗性の強化層が形成され、特にフッ素徐放能を備えた材料でその効果が顕著であることが見いだされている。

組織再生能：Sr 等のイオンの放出は、硬組織形成細胞の機能促進に結び付くことが期待されているが、今のところ積極的な組織再生作用が付与された修復材料は存在しない。演者らは、FGF-2 を徐放するレジンの開発を行っており、生体組織の再生作用も兼ね備えた各種修復材の実用化を目指している。

上記のような修復材料の高次機能化は、単なる材料の進化にとどまらず、修復治療の概念そのものを覆す可能性をも秘めている。今後は、より確実に最適な効果が得られる材料設計の探求や、複数の高次機能が付加されたマルチファンクション化の試み等が展開されるとともに、オンデマンドに機能を発現できるインテリジェント化材料の開発へと発展していくことが予測される。



## ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の現状と展望

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野

興地隆史

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) を代表とするケイ酸カルシウム系歯内療法用材料は、ポルトランドセメント（いわゆる土木建築用セメント）を改変して開発された水硬性セメントであり、ケイ酸二カルシウム ( $2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$ )、ケイ酸三カルシウム ( $3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$ ) を主成分とし、これに造影材が添加された組成となっている。本邦では ProRoot MTA が覆髄材として認可されているが、諸外国ではこれに加えて、逆根管充填、穿孔封鎖、apexification など、歯内療法のいわゆる「難症例」を中心に多方面での臨床応用がなされている。これには、MTA が生体親和性、良好な封鎖性、さらにはある程度の抗菌性を有するのみならず、硬組織形成誘導能をも備えるとする多くの報告が根拠となっており、直接覆髄後の dentin bridge 形成はいうに及ばず、逆根管充填や穿孔封鎖に應用された場合においてもセメント質様の硬組織形成を伴う生物学的治癒が期待できるとの組織学的報告もみられる。本講演では、この種の組成の材料がなぜ良好な理工学的・生物学的特性を示すのか、という根本的な疑問に答えるための話題を提供したい。

MTA 硬化体の物性（組成）や生体内での挙動については、本材がポルトランドセメントと同様に硬化反応の過程で水酸化カルシウムを生成することから、その持続的溶出による「水酸化カルシウム徐放性材料」といった性質を備えること、および従来水酸化カルシウム系セメントと比較して崩壊がわずかであることが基礎となるように思われる。また、リン酸イオン存在下では MTA の表面にアパタイト様の結晶の析出が生じることも証明されており、本材の生体親和性を説明する重要な所見と考えられる。一方、MTA と象牙質との接着は強固とはいえないが、界面部では Ca, Si などの象牙質への移行やタグ様構造の形成も示されており、MTA と象牙質とのなんらかの相互作用が本材の封鎖性に寄与している可能性が推察される。MTA の抗菌性は、水酸化カルシウム溶出に伴うアルカリ環境の形成で説明されよう。

さらに演者らは、MTA による直接覆髄後の新生硬組織形成機序を組織学的、免疫組織化学的に検討しており、水酸化カルシウム製剤を用いて明らかにされた修復機構がある程度再現されることを観察している。すなわち、新生象牙芽細胞が主として覆髄部下層の血管周囲に存在する前駆細胞に由来すること、あるいは硬組織形成が、MTA・歯髄界面部に形成される1層の変性層を起点として開始されることなどを観察している。さらには、osteopontin, dentin matrix protein-1 などの硬組織関連タンパクが MTA・歯髄界面近傍に集積することも観察しているが、この所見は水酸化カルシウムを用いた場合でもみられることから、MTA に特異的な硬組織形成誘導機構の有無については結論が得られていない。いずれにしても、生来の治癒能力が妨げられず局所環境が適切に維持されることが、MTA による硬組織形成誘導の本態と推察される。

一方、MTA の問題点として操作性（粘度が低く扱いづらい）や硬化時間が長いことが挙げられているが、現在諸外国ではこれらの改良を意図した新規ケイ酸カルシウム系材料が盛んに開発されている。

ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の臨床応用が諸外国と比較してまだ進んでいないのが本邦の現状であるが、本講演が今後の普及に向けた話題提供となれば幸いである。

## 歯の健康維持・延命化をめざした歯科再生医療による新しいう蝕・ 歯髄炎治療法の開発

国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部 口腔機能再生研究室

中島美砂子

超高齢化社会に向かい、医療・福祉経済の破綻の可能性が示唆される昨今、健康長寿者を増加させる政策は急務である。愛知県歯科医師会の平成20年度の8020表彰者追跡調査報告によれば、8020達成者は、未達成者よりも、明らかに自立・健康者が多いと報告されている。すなわち、歯の健康維持・延命化が全身の健康維持に重要であることの証明であり、学術的にも明らかにされつつある。

歯を失う原因の約半分は、う蝕とそれに伴う歯の破折である。その歯の機能維持に種々の重要な役割を果たすのが歯髄である。しかし、歯髄炎に罹患した際には、ほとんどの場合、抜髄などの処置が行われている。その結果、歯の機能低下が起り、歯の破折などにより歯を喪失する可能性が増大したり、根尖性歯周炎の発症などにより、抜歯を余儀なくされることもある。

そこで私どもは、象牙質・歯髄の再生を目指して「歯髄幹細胞および再生歯科充填材を用いた全く新規の象牙質・歯髄再生法」と題する研究により、従来のう蝕・歯内治療技術を高性能化し、イノベーションをもたらす研究開発を行っている。この研究の骨子は、①深いう蝕において、*in vitro* で歯髄幹細胞を穴加工シリコン膜に付着させ、加圧により短時間で象牙芽細胞に分化させ、作製した象牙質・歯髄複合体（バイオ歯）を移植する細管象牙質再生法、②一部性歯髄炎において、matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) 塗布により歯髄を再生する歯髄炎治療法、③全部性歯髄炎あるいは根尖性歯周炎において、根管拡大清掃・無菌化後、歯髄幹細胞および再生根管充填材（遊走因子、scaffold から成る）を注入し、歯髄を完全に再生させる歯髄再生法、④前記歯髄・象牙質再生治療を行う前処理として、ナノバブルと超音波エネルギーを用いて薬剤を象牙質の細管内に導入し、象牙質の完全無菌化を図る方法の4項目である。なお、この研究は、先端医療開発特区整備事業（スーパー特区）に採択されている。

本講演では、全部性歯髄炎あるいは根尖性歯周炎における、歯髄を完全に再生させる歯髄再生法を中心に述べることにする。

歯髄再生においては血管および神経も同時に再生させる必要があり、私どもはヒト永久歯歯髄より、遊走・増殖能に優れ、高い血管・神経誘導能を有するCD105<sup>+</sup>幹細胞/前駆細胞を分取した。さらに下肢虚血モデルにこのCD105<sup>+</sup>細胞を移植すると血流の回復ならびに血管新生促進がみられた。また、脳梗塞モデルに移植すると梗塞部周囲に集積し、神経細胞の分化促進、運動麻痺の劇的回復がみられた。よって、この血管新生・神経再生能に優れた歯髄CD105<sup>+</sup>細胞を、イヌの根尖完成歯の抜髄後の根管内にコラーゲン scaffold と遊走因子 SDF-1 とともに自家移植すると、わずか14日で血管および神経を伴う歯髄の再生がみられた。さらに90日後には、根管内は完全に歯髄組織で満たされていた。根管内象牙質側壁には分化した象牙芽細胞が並んで象牙質を形成していたが、歯髄内部の石灰化はあまりみられなかった。また、内部吸収・外部吸収、歯髄炎症所見なども全くみられなかった。この再生歯髄は分子生物学的ならびにタンパク化学的解析により、歯根膜とは異なり、正常歯髄とほぼ類似していることが明らかとなった。一方、同一個体の脂肪由来のCD105<sup>+</sup>細胞をSDF-1とともに移植した場合はほとんど歯髄は再生されず、分取していない歯髄細胞を移植した場合には少量の歯髄組織が再生されるが石灰化する傾向がみられた。以上の結果より、歯髄CD105<sup>+</sup>細胞の歯髄再生への有効性が示唆された。また、高齢のイヌにおいても同様に歯髄再生に成功した。現在、実用化に向けて、歯髄幹細胞をヒト歯髄組織より安全に安定的に分取する方法の確立を検討している。

## Dentistry in the United States (アメリカの歯科事情)

Department of Endodontics, Texas A & M Health Science Center, Baylor College of Dentistry

Takashi KOMABAYASHI

### Session Description :

Dentistry and dental education in the United States are quite different from the same areas in Japan. For example, while 3-4 years of undergraduate study are required for admission to dental schools in the U. S., undergraduate pre-dental study is not required prior to entry into Japanese dental schools. The number of first-year dental students in all 56 U. S. dental schools is approximately 4,500, and the current admission process is very competitive. The total curriculum hours at UCSF dental school (4-year DDS program) is 4,312, which comprises 1,307 hours of didactic study and 3,005 hours of practical/clinical study. The first- and second-year dental students focus on didactic study and technical training in the laboratory. The third- and fourth-year students devote 80% of their time to direct patient care under the supervision of licensed dental faculty. Requirements for dental licensure include National Board Dental Examination Parts I & II, and technical examination (U. S. state/regional board examination). There are approximately 180,000 dentists (80% general dentists, 20% dental specialists), and the dentist-to-citizen ratio is 1 : 1,700. The overall patient satisfaction rate exceeds 80% according to Consumer Reports. Nine dental specialties are defined by the American Dental Association. Specialty program/resident admission after dental school graduation is highly regulated by each specialty field and is extremely competitive.

### The aim of this session :

To understand the difference between dentistry and dental education in the U. S. and Japan.

### Outline of this session :

This 60-minute session features an analytic view of dentistry in American and Japanese institutions, including an analysis of dental practice in each country. The presentation will illustrate both similarities and differences between the two countries from a dentist who has practiced in both countries. The speaker will draw on personal experience and proven research.

### 日本語でのご挨拶

このセミナーでは、自らの体験に基づいてアメリカの歯学教育や専門医制度を含めた歯科医療制度について、客観性を保ちながらざっくばらんにわかりやすく丁寧にお話しします。日本とアメリカの歯科事情は大きく異なるので、単にアメリカで行われている治療や各種制度をそのまま日本へ導入することは困難です。アメリカを真似すれば万事解決とはなりません。

アメリカの臨床・研究・教育は各種制度と深い関係にあります。ですので、特別講演Iと外国招聘者を囲むセミナーの両方にご参加いただきますと学習上の大きな相乗効果が期待できます。特に大学院生や若手の先生方も奮ってご参加ください。岐阜でお目にかかることを心より楽しみにしております。

駒林 卓

セミナーでは、日本語のスライドを用いて日本語で講演します。

外国招聘者を囲むセミナー（軽食付き）への参加は事前申し込みが必要です。申し込み方法は、学会ホームページをごらんください。